

Acta Bot. Croat. 31 (1972) 15—20

NALAZ VIRUSA NEKROTIČNE PRSTENASTE PJEGAVOSTI TREŠNJE NA RUŽI U JUGOSLAVIJI

Mit deutscher Zusammenfassung

BOGDAN CVJETKOVIĆ, NADA PLEŠE, ZLATA ŠTEFANAC
i DAVOR MILIČIĆ

(Institut za botaniku Sveučilišta i Institut za zaštitu bilja Poljoprivrednog
fakultetu u Zagrebu)

Primljeno 3. 2. 1972.

Uvod

Virus nekrotične prstenaste pjegavosti trešnje (VNPP) na ruži dosad je u Evropi sa sigurnošću utvrđen i opisan samo u nekoliko zemalja, i to u Italiji (Gualaccini 1958), Njemačkoj (Schmelzer 1966) i Engleskoj (Posnette 1967). Navedeni istraživači ustanovili su nazočnost toga virusa na ružama koje su na listovima pokazivale simptome najčešće u obliku intenzivnog žućkastobijelog linijskog i vrpčastog mozaika ili u obliku hrastova lista.

Ruže s opisanim simptomima zapazili smo kod nas u Jugoslaviji na nekoliko mjesta. Kako vrlo slične simptome na ružama uzrokuju i neki nepovirusi, i to virus prstenaste pjegavosti rajčice (Halliwell i Milbrath 1962), virus mozaika gušarke (Cammack 1966) i virus prstenaste pjegavosti duhana (McDaniel, Buck i Ford 1971), to je teško samo na osnovi simptoma zaključiti o kojem se virusu radi. Stoga smo poduzeli istraživanja za točniju identifikaciju virusnog izolata iz ruže. U radu ćemo iznijeti podatke o tom virusnom izolatu.

Materijal i metode

Porijeklo istraživanog materijala

Iz ruže s vrpčastim mozaikom nađene na području Zagreba izolirali smo virus koji smo označili oznakom R1 (sl. 1A, B).

Način prenošenja i rad s pokusnim biljkama

Grančice ruže na kojima su prethodne godine uočeni simptomi potapanje su u vodenu kupelj temperature 30 °C kroz 12 sati. Nakon toga držane su na sobnoj temperaturi sve dok se nisu počeli otvarati prvi lisni pupovi. Lisni pupovi homogenizirani su zatim u tarioniku uz dodatak nekoliko kapi stabilizacijske smjese (O p e l i K e g l e r 1969). Tim homogenatom inokulirali smo kotiledone krastavca (*Cucumis sativus* L. »Delikates«). Inficirani kotiledoni poslužili su kao izvor virusa za inokulaciju pokusnih biljaka i kao izvor antigena za serološke pokuse.

Pri prenošenju virusa sa zeljastih na druge zeljaste biljke upotrebljavali smo 0,03 M fosfatni pufer pH 8, koji je sadržavao 2-merkaptetoetanol u koncentraciji od 0,02 M (F u l t o n 1968a). Za reinfekcijske pokuse upotrijebili smo krastavac.

Prenošenje virusa na vrstu *Prunus serrulata* Lind. »Shirofugen« izvršili smo okulacijom. Prilikom cijepljenja uzimali smo s grančica mozaične ruže bazalne pupove, jer su tada reakcije indikatora sigurnije (F l e i s h e r, D r o r i i L o e b e n s t e i n 1971).

Serološki pokusi

U svrhu identifikacije izolata R1 nabavili smo ljubaznošću R. W. F u l t o n a imuni serum protiv serotipa A i C VNPP trešnje (F u l t o n 1968b). Homologni titar navedenih seruma iznosio je 1/1280. Za serološke pokuse koristili smo se sirovim sokom zaraženih krastavaca neposredno nakon pojave simptoma, kada je koncentracija virusa bila najveća. Svi pokusi izvršeni su metodom difuzije u agar-gelu.

Rezultati

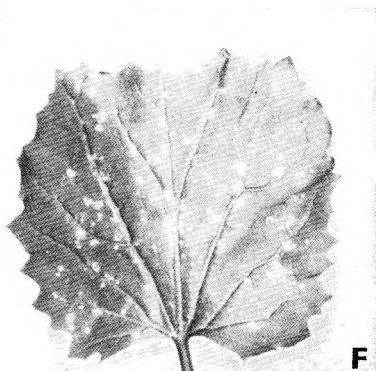
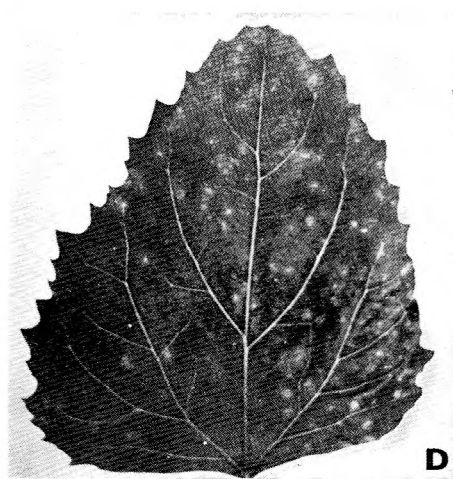
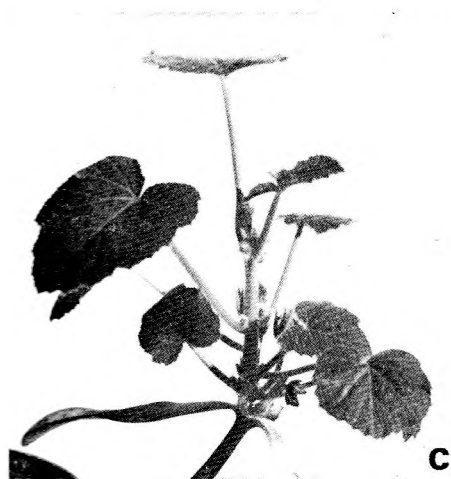
Nalazišta i simptomi

Ruže s vrpčastim mozaikom našli smo na nekoliko mjesta u Jugoslaviji, i to u Primoštenu, Kninu i u više vrtova u Zagrebu. Primoštenska ruža pripadala je sorti »Montezuma«, dok ostale nisu točnije determinirane. Čini se, prema tome, da su ruže s vrpčastim mozaikom prilično česte u našoj zemlji (sl. 1).

Na nekim listovima ili grančicama oboljelih ruža zapažali su se simptomi, dok su drugi dijelovi bili bez simptoma. Simptomi su se redovno sastojali od žućkastobijelih jednoliko širokih linija i vrpca koje su se pružale ili usporedno s rubom lista ili su katkad bile okomite na glavni nerv i završavale okomito na rub lista. Ponekad su vrpce dobivale oblik hrastova lista. U nekim slučajevima sastojale su se od nekoliko usporedno položenih linija. Izmijenjeni dijelovi često su krajem ljeta postali intenzivnije žuto obojeni. Potrebno je naglasiti da se simptomi ne pojavljuju svake godine, tako da i na izgled zdrave biljke mogu sadržavati virus.

Sl. 1. Simptomi na listovima ruže koji na sl. B imaju tipičan oblik vrpčastog mozaika.

Abb. 1. Symptome an den Rosenblättern, die in der Teilabbildung B die Form eines typischen Bandmosaik annehmen.



Sl. 2. — Abb. 2.

Identifikacija virusa s pomoću pokusnih biljaka

Izolat R1 prenijeli smo na nekoliko zeljastih pokusnih biljaka i drvenasti indikator *Prunus serrulata* »Shirofugen«, koji su nam omogućili identifikaciju virusa.

Reakcije na zeljastim biljkama

Cucumis sativus L. (Delikates). Na inokuliranim kotiledonima nastaju okrugle žutozelene klorotične lokalne lezije (sl. 2A). U velikom broju slučajeva dolazi do odumiranja vegetacijskog vrška i razvoja postranih pupova, a biljke jako zaostaju u rastu (sl. 2B). Neki primjerci ugibaju.

Cucurbita pepo L. (Cocozele). Vrsta je vrlo osjetljiva na ovaj virus. Vršni pup redovito odumire i dolazi do stvaranja postranih izbojaka (sl. 2C). Na prvim pravim listovima javlja se mozaik; takvi listovi uskoro požute i otpadnu.

C. maxima Duch. (Buttercup). Na inokuliranim kotiledonima manjeg broja primjeraka pojavio se po jedan prsten zlatnožute boje.

Momordica balsamina L. Na inokuliranim listovima nastaju bijele nekrotične lokalne lezije (sl. 2F). Inficirane mlade biljke zaostaju u rastu i ubrzo ugibaju.

Chenopodium amaranticolor Coste et Reyn. Nismo primijetili nikakve promjene na inokuliranim listovima. Na gornjim listovima nastajale su sitne nekrotične lezije (sl. 2D).

Ch. quinoa Willd. Inokulirani listovi razvijaju jedva primjetljive lokalne lezije. Na gornjim mladim listovima javlja se slabo izraženi mozaik (sl. 2E).

Virus nismo uspjeli prenijeti na ove vrste: *Chenopodium album* L., *Ch. murale* L., *Nicotiana rustica* L., *N. tabacum* L. (White Burley), *Tithonia speciosa* Hook., *Vigna sinensis* (Torn.) Endl. i *Vinca minor* L.

Reakcija na drvenastom indikatoru

Kod indikatora *P. serrulata* »Shirofugen« došlo je na mjestu okuliranja do snažnog istjecanja smole (sl. 2G). Takva hipersenzibilna reakcija toga indikatora karakteristična je za viruse iz skupine ILAR. (Fulton 1968 b).

Sl. 2. Difuzne klorotične lokalne lezije na kotiledonima i nekroza vrška (A) te kržljavljenje (B) kod vrste *Cucumis sativus*. Anomalno stvaranje većeg broja bočnih izbojaka i kržljavljenje vrste *Cucurbita pepo* (C). Malene nekrotične lezije na listu vrste *Chenopodium amaranticolor* (D). Blagi mozaik na listu *Ch. quinoa* (E). Veće prstenaste i točkaste nekrotične lezije na listu *Momordica balsamina* (F). Istjecanje smole i nekroza na mjestu okulacije kod indikatora *Prunus serrulata* »Shirofugen«.

Abb. 2. Diffuse chlorotische Lokalläsionen auf Kotyledonen und Nekrose des Vegetationspunkts (A), Blattdeformationen und Wuchshemmung (B) auf *Cucumis sativus*. Wuchshemmung und anomale Entwicklung von Seitentrieben auf *Cucurbita pepo* (C). Kleine nekrotische Läsionen auf dem Blatt von *Chenopodium amaranticolor* (D). Mosaik auf *Ch. quinoa* (E). Punkt- und ringförmige nekrotische Lokalläsionen auf dem Blatt von *Momordica balsamina* (F). Nekrose und Gummifluß um die Okulationsstelle auf *Prunus serrulata* »Shirofugen« (G).

Serološka identifikacija virusa

Serološka ispitivanja izolata R1 izveli smo imunim serumima protiv serotipa A i C VNPP trešnje. Serumima smo se koristili u razrjeđenju 1/8. U ovim pokusima izolat R1 pozitivno je reagirao sa serumom protiv serotipa C. U agaru je došlo do formiranja lagano izražene precipitacijske linije. Virus nije reagirao sa serumom protiv serotipa A. U kontrolnim pokusima sokom zdravih krastavaca nije došlo do reakcije.

Konzerviranje virusa

Izolat smo čuvali u isušanim kotiledonima krastavca. Konzerviranje smo vršili sušenjem kotiledona prema metodi koju su opisali Waterworth i Fulton (1964). Ovako konzerviran materijal bio je još infektivan nakon četiri mjeseca. Poslije toga infektivnost se naglo smanjila.

Diskusija

Hipersenzibilna reakcija indikatora *Prunus serrulata* (Shirofugen) upozorava na to da virusni izolat R1 iz mozaične ruže pripada skupini ILAR virusa. Istovremeno ta reakcija isključuje mogućnost da se radi o jednom od nepovirusa (Kegler, Richter i Schmidt 1966) koji također mogu biti prisutni u mozaičnim ružama (McDaniel, Buck i Ford 1971). Nadalje, karakteristični simptomi na vrstama *Chenopodium amaranticolor*, *Ch. quinoa*, *Cucumis sativus* i *Momordica balsamina* pokazuju da izolat R1 pripada VNPP trešnje. Ti se simptomi podudaraju sa simptomima koje su za VNPP trešnje opisali Fulton (1957), Kegler (1965) i Németh (1965). Pripadnost VNPP trešnje potvrđuje i pozitivna serološka reakcija sa serumom protiv C soja VNPP trešnje.

Budući da prilikom ovih pokusa nije došlo do serološke reakcije serumom protiv serotipa A, čini se da je izolat R1 bliži serotipu C. Međutim, da se točnije odredi bliža serološka srodnost izolata R1 s jednim ili drugim serotipom VNPP trešnje, treba se za serološke reakcije koristiti koncentriranije virusne preparate.

VNPP trešnje bio je već prije utvrđen u Jugoslaviji, i to na trešnji (Jordović 1958; Ranković 1970), šljivi (Pleše i Juretić 1969) i višnji (prema usmenom saopćenju prof. A. Šarić).

Zaključak

Utvdili smo da je ruža s mozaičnim simptomima koja je potjecala iz Zagreba inficirana virusom nekrotične prstenaste pjegavosti trešnje (cherry necrotic ring spot virus). Do toga zaključka došli smo na osnovi karakterističnih simptoma na pokusnim biljkama i na osnovi seroloških istraživanja.

Ovom prilikom prvi put je utvrđena virusna bolest na ružama u Jugoslaviji i ustanovljeno da je uzročnik te bolesti virus nekrotične prstenaste pjegavosti trešnje.

- Cammack, R. H., 1966: Soil-borne viruses in rose. *Plant Path.* 15, 47—48.
- Fleischer, Z., Drori, T. and Loebenstein, G., 1971: Evalution of Shirofugen as a reliable indicator for rose mosaic virus. *Plant Dis. Repr.* 46, 722—723.
- Fulton, R. W., 1957: Comparative host ranges of certain mechanically transmitted virusses of *Prunus*. *Phytopathology* 47, 215—220.
- Fulton, R. W., 1968 a: Serology of viruses causing cherry necrotic ringspot, plum line pattern, rose mosaic, and apple mosaic. *Phytopathology* 58, 635—638.
- Fulton, R. W., 1968 b: Relationships among the ringspot viruses of *Prunus*. *Ta- gungsberichte der Deutsch. Akad. d. Landwirtschaftswissenschaften zu Berlin* 97, 123—138.
- Gualaccini, F., 1958: Una virosi della rosa nuova per l'Italia. Suoi rapporti con le virosi dei fruttiferi. *Boll. Staz. patol. veg. Roma* 16, 76—88.
- Halliwel, R. S., and Milbrath, J. A., 1962: Isolation and identification of tomato ringspot virus associated with rose plants and rose mosaic virus. *Plant Dis. Repr.* 46, 555—557.
- Jordović, M., 1958: O nekim malo poznatim virozama voćaka u našoj zemlji. *Zaštita bilja* 47/48, 109—111.
- Kegler, H., 1965: Untersuchungen über Ringfleckenkrankheiten der Kirsche. II Wirtspflanzen und physikalische Eigenschaften von Ringfleckenviren. *Phytopath. Z.* 54, 305—327.
- Kegler, H., Richter, J., und Schmidt, H. B., 1966: Untersuchungen zur Identifizierung und Differenzierung des Blattrollvirus der Kirsche (cherry leaf roll virus). *Phytopath. Z.* 56, 313—330.
- McDaniel, G. L., Buck, G. J., and Ford, R. E., 1971: Isolation of tobacco ringspot virus from rose. *Phytopathology* 61, 45—49.
- Németh, M., 1965: Study and identification of ringspot viruses occurring on stone fruits in Hungary. *Zaštita bilja* 16, 441—457.
- Opel, H., und Kegler, H., 1969: Tabletierung eines Stabilisierungsgemisches zur mechanischen Virusübertragung beim Obst. *Arh. Gartenbau* 17, 155—159.
- Pleše, N., i Juretić, N., 1969: Istraživanja o virusima prstenaste pjegavosti trešnje. *Acta Bot. Croat.* 28, 299—315.
- Posnette, A. F., 1967: *Ann. Repr. East Malling Res. Sta.* 1966. *RAM* 46, 457.
- Rcnković, M., 1970: Proučavanje i identifikacija virusa prouzrokovaca enacija na lišću breskve. *Zaštita bilja* 21, 335—356.
- Schmelzer, K., 1966: Zur Ätiologie des Rosengelbmosaik. *Zbl. Bakt. II. Abt.*, 120, 233—236.
- Wæterworth, H. E., and Fulton, R. W., 1964: Variation among isolates of necrotic ringspot and prune dwarf viruses isolated from sour cherry. *Phytopathology* 54, 1155—1160.

ZUSAMMENFASSUNG

NACHWEIS DES NEKROTISCHEN RINGFLECKEN-VIRUS DER KIRSCHEN AN DEN ROSEN IN JUGOSLAWIEN

Bogdan Cvjetković, Nada Pleše, Zlata Štefanac i Davor Miličić

(Botanisches Institut der Universität und Institut für Pflanzenschutz
der Landwirtschaftlichen Fakultät Zagreb)

In Europa ist das nekrotische Ringfleckenvirus der Kirsche (NRV; cherry necrotic ring spot virus) an Rosenarten nur in Italien (Gualacini 1958), Deutschland (Schmelzer 1966) und England (Posnette 1967) mit Sicherheit festgestellt. Die Rosenarten, die mit erwähntem Virus infiziert sind, zeigen häufig auf den Blättern scharf abgegrenzte Linien und Bänder sowie Eichenblattmuster von hellgrüner, gelblicher oder weißlicher Färbung. Derartige Symptome haben wir auf Rosen in einigen Ziergärten in Zagreb, Primošten und Knin feststellen können.

Aus einer symptomtragenden Rose in Zagreb (Abb. 1) erhielten wir das Virusisolat R1, das wir eingehend untersucht haben. Charakteristische Symptome auf krautigen Pflanzen *Chenopodium amaranticolor* (Abb. 2D), *Ch. quinoa* (Abb. 2E), *Cucumis sativus* »Delikateß« (Abb. 2A, B), *Momordica balsamina* (Abb. 2F) und die Überempfindlichkeitsreaktion auf *Prunus serrulata* »Shirofugen« (Abb. 2G) haben uns gezeigt, daß das Isolat R1 dem NRV angehört. Dieser Befund wurde auch durch serologische Untersuchungen bestätigt. Das Isolat R1 reagierte mit dem Serum gegen den C-Serotyp von NRV positiv.

Das ist zum ersten Mal, daß in Jugoslawien gelungen ist ein Virus aus einer Rosenart zu isolieren. Dieses Virus (NRV) wurde früher in Jugoslawien nur an Pflaumen- und Kirschenbäumen aufgefunden.

Bogdan Cvjetković, dipl. inž.
Institut za zaštitu bilja
Poljoprivrednog fakulteta u Zagrebu
Kačićeva ul. 9
41000 Zagreb (Jugoslavija)

Nada Pleše, mr biol., dr Zlata Štefanac
i prof. dr Davor Miličić
Institut za botaniku
Sveučilišta u Zagrebu
Marulićev trg 20/II
41000 Zagreb (Jugoslavija)